

JP6098758

Publication Title:

CULTIVATION METHOD AND CULTIVATION APPARATUS

Abstract:

PURPOSE: To recover a liquid containing cultured product from a culture liquid of microorganisms or cells through a porous separation membrane by intermittently passing a gas from the inside of a porous membrane thin tube, thereby removing the clogging of the pores.

CONSTITUTION: A porous membrane thin tube 4 in a culture vessel 1 is connected through a changeover valve 5 to a filtrate-extraction pipe 6 and through a changeover valve 7 to an aeration pipe 8 and operated while switching the operation mode between filtration and aeration. The lowering of the flow rate of the filtrate with time is decreased and the separation of the waste or the useful product in the culture liquid can be carried out at a high flow rate of the filtrate.

Data supplied from the esp@cenet database - <http://ep.espacenet.com>

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-98758

(43) 公開日 平成6年(1994) 4月14日

(51) Int. Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/00		B 7236-4B		
B 0 1 D 61/14	5 0 0	8014-4D		
65/02	5 2 0	8014-4D		
C 1 2 M 1/00		Z		

審査請求 有 請求項の数4 (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平4-276728

(22) 出願日 平成4年(1992) 9月22日

(71) 出願人 000001144

工業技術院長

東京都千代田区霞が関1丁目3番1号

(74) 上記1名の復代理人 弁理士 阿形 明 (外1名)

(71) 出願人 591243686

中央設備エンジニアリング株式会社

愛知県名古屋市中村区名駅1丁目2番4号

(74) 上記1名の代理人 弁理士 阿形 明 (外1名)

(72) 発明者 鈴木 高広

愛知県名古屋市瑞穂区北原町3丁目11番地
三旺マンション瑞穂北原102号

(72) 発明者 小南 実

愛知県名古屋市名東区社が丘2-1013

(54) 【発明の名称】 培養方法及び培養装置

(57) 【要約】

【構成】 ろ過培養法において、多孔質分離膜の培養液と接触している側と反対の側から間欠的に通気して細孔中に沈積する目詰り原因物質を除去することにより、培養を行いながら微生物又は細胞の培養液より、該膜を通して生成物を含む液を回収する方法、及び切換弁によって相互に切換えられるろ液取出管と送気管とが連結された多孔質膜細管が内部に配設された培養器又はバイオリアクターから成る培養装置である。

【効果】 培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜が目詰りを起こすことなく、該膜を通して生成物を含む液を効率よく回収することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜を通して生成物を含む液を回収するに当り、多孔質分離膜の培養液と接触している側と反対の側から間欠的に通気し、細孔中に沈積する目詰り原因物質を除去することを特徴とする培養方法。

【請求項2】 培養器又はバイオリアクター、その中に配設された多孔質膜細管、その多孔質膜細管と連結し、切換弁によって相互に切換えられるろ液取出管と送気管、調節弁及び除菌フィルターを介して送気管と連結する栄養源ガス供給管及び空気供給管から成る培養装置。

【請求項3】 複数の多孔質膜細管を有し、交互にろ液取出しと送気とを繰り返すようにした請求項2記載の培養装置。

【請求項4】 水位計を備え、それにより液面を監視しながら、ろ過操作の始動及び停止を行う請求項2又は3記載の培養装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、微生物又は細胞の培養方法の改良及びそれに用いる培養装置に関するものである。さらに詳しくいえば、本発明は、培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜が目詰りを起こすことなく、該膜を通して生成物を含む液を効率よく回収する方法、及びこの方法に用いる多孔質分離膜の目詰り防止機能及び高い通気効率を得るための機能を備えた培養装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 微生物又は細胞を培養するのに用いられる培養器やバイオリアクターには、通常微生物又は細胞を高密度に培養したり、目的生産物を得るためにろ過分離装置が付設されている。しかしながら、このようなろ過分離装置が付設された従来の培養器やバイオリアクターにおいては、培養工程と分離精製工程とがそれぞれ独立しており、培養液のろ過・回収工程に伴う付随設備を必要とするため、設備費が高つくとともに、ろ過・回収操作が煩雑であるなどの問題があった。

【0003】 また、前記ろ過分離装置には、一般に多孔質分離膜が用いられるが、この場合、該膜の目詰りによるろ過流量やろ過効率の低下が大きな問題となる。従来はろ過分離装置が付設された培養器やバイオリアクターにおいては、この問題に対処するのに、一定期間使用後に培養を中断又は終了させたのち、逆洗浄処理や薬品処理しているが、このような方法では効率上きわめて不利である。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、このような従来技術における問題を解決し、培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜が目詰りを起こすことなくこれを通して生成物を含む液を効率よく回

収する方法、及びこの方法に用いる培養装置を提供することを目的としてなされたものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、前記目的を達成するために鋭意研究を重ねた結果、培養装置として、目詰り防止機能を備えた多孔質膜細管、すなわち、切換弁によって相互に切換えられるろ液取出管と送気管とが連結された多孔質膜細管が内部に配設された培養器又はバイオリアクターを用い、多孔質分離膜の培養液と接触している側と反対の側（多孔質膜細管の内部）から間欠的に通気し、細孔中に沈積する目詰り原因物質を除去することにより、培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜が目詰りを起こすことなく該膜を通して生成物を含む液を効率よく回収することを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0006】 すなわち、本発明は、培養を行いながら、微生物又は細胞の培養液より、多孔質分離膜を通して生成物を含む液を回収するに当り、多孔質分離膜の培養液と接触している側と反対の側から間欠的に通気し、細孔中に沈積する目詰り原因物質を除去することを特徴とする培養方法及び培養器又はバイオリアクター、その中に配設された多孔質膜細管、その多孔質膜細管と連結し、切換弁によって相互に切換えられるろ液取出管と送気管、調節弁及び除菌フィルターを介して送気管と連結する栄養源ガス供給管及び空気供給管から成る培養装置に関するものである。

【0007】 本発明に用いる多孔質分離膜については特に制限がなく、培養液あるいは反応生成物と微生物又は細胞をろ過分離する機能を有する多孔質セラミック膜、多孔質ガラス膜、有機高分子膜、金属不織布などがあり、膜内に通気可能な形状であれば、管状、中空糸、スパイラルなどを用いることができる。これらの膜の中では管状のセラミック膜が比較的適している。また、微生物や細胞についても特に制限はなく、酵母、細菌、カビ、放線菌、動物細胞、植物細胞などが挙げられる。

【0008】 これらの多孔質分離膜は、微生物又は細胞の培養に従来用いられている通常の培養器又はバイオリアクターの中に配設され、この多孔質分離膜により分離された生成物を含む液は吸引方式などにより、培養器外部へ流出し、回収される。

【0009】 この多孔質分離膜のろ液抜き取り口に通気吹き出し口を接続し、ろ過効率が低下した場合には、ろ過操作と逆方向、すなわち、該多孔質分離膜の培養液と接触している側と反対の側から除菌フィルターを経た清浄気体を吹き込むことにより、該膜の細孔中に沈積する目詰り原因物質が除去され、これによって再び運転初期と同等のろ過効率を確保することができ、高いろ過流量を長期間維持することができる。

【0010】 また、多孔質分離膜の目詰り原因物質の除

去操作に用いられる清浄気体は、膜透過後は微小分散化された気泡となり、培養との接触面積を高め、培養液中への気体分散と溶解効率を高める効果をもたらす。その結果、微生物や細胞への通気効率が上がり培養効率が上昇する。この通気ガスの供給は、培養に必要な栄養源をガス状で供給するのが望ましく、微生物や細胞の種類により、空気、酸素、炭酸ガスなどを選択し、またガスの組成比を調節することにより、好気性培養及び嫌気性培養のいずれの培養も行うことができる。

【0011】培養器又はバイオリアクター中に配設される多孔質分離膜は通気とろ過の両操作に使用するため、中空管型の多孔質膜細管が最も適している。培養液量が増加した場合にろ過操作を行い、その他の期間は通気操作に供することにより、間欠的に目詰りを解消し、高いろ過効率を長期間維持することができる。また、分離独立した多孔質膜細管を2組以上配設する場合は、交互に通気操作とろ過操作を切り換える操作を行うことにより、連続通気操作と連続ろ過操作を継続することができるので有利である。

【0012】また、培養器又はバイオリアクターに水位計若しくは液面センサーを用いて、内部の培養液量が過剰となったときのみろ過操作を行い、その他の期間はろ過を停止又は通気操作に使用することにより、不必要なろ過操作を防止し、目詰りの発生原因を低減することができる。同時にろ過培養プロセスにおいて、培養液量を常にほぼ一定に維持することが可能となるため、培養器内部の菌体量や栄養状態を推定することが容易となり、長期間連続操作を効率よく実施することができる。

【0013】次に、このような培養方法に用いられる本発明の培養装置について、添付図面に従って説明する。図1は本発明の培養装置の1例の概略図であって、温度制御用恒温水ジャケット2及び攪拌翼3を備えた培養器の1つの中に2本の多孔質膜細管4が配設されている。この多孔質膜細管は、切換弁5を介してろ液取出管6及び切換弁7を介して送気管8と連結している。送気管8は除菌フィルター9を介して栄養源ガス供給管10及び空気供給管11と連結している。

【0014】この培養器1には、DOセンサー、pHセンサー、炭酸ガス計、温度センサー（いずれも図示せず）及び液面センサー12が設置されている。ろ液は液面センサー12と連動する取り出しポンプ（図示せず）により、調節弁13を通して培養器1外へ流出され、培養器内の液量は常に一定に保たれる。基質供給用ポンプ（図示せず）はpHセンサー、DOセンサー、炭酸ガス計と連動し、pHスタット、DOスタット、CO₂スタット法などにより、培養器内の栄養源不足時に基質が供給される。

【0015】培養器内に供給される空気、酸素、炭酸ガス、窒素は、流量調節弁14により混合割合が調節され、除菌フィルター9を介して送気管8を通り、2本の

多孔質膜細管4に交互に供給される。この通気経路の切換えは液面センサー12からの情報を受けタイマー15により実施できる。これと平行してろ液抜き取り経路の切換えが行われる。

【0016】図2は、前記培養装置を用い、ろ過・通気切換え運転の場合と通気せずにろ過運転のみの場合の培養時間とろ過流量との関係の例を示すグラフである。図2において丸印はセラミック細管膜Aを使用した場合、三角印はセラミック細管膜Bを使用した場合である。ろ過・通気切換え運転を行うと経時によるろ過流量の低下はわずかであるが、ろ過運転のみの場合は経時とともにろ過流量は急速に低下する。

【0017】

【発明の効果】本発明装置によって、培養器又はバイオリアクター内に微生物や細胞を保持したまま、長期間連続して高いろ過流量で培養液中の老廃物の分離あるいは有用生産物の分離を行うことができる。したがって、従来の膜分離工程における最大の問題点であった目詰りの問題を解決した本発明装置は、産業上の発展をもたらす影響は大きい。

【0018】

【実施例】次に、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの例によってなんら限定されるものではない。

【0019】実施例1

図1に示す培養装置を用い、前記した方法により実施した。培養器の容量は1リットル、攪拌翼3は上部攪拌駆動式により0~800rpmの範囲で回転する。2本の多孔質膜細管は平均細孔径5μmのセラミック製で、内径7mm、外径10mmである。この培養器を用いてパン酵母を通気攪拌しながら培養した。

【0020】グルコース50g/リットル、酵母エキス1g/リットル、ポリペプトン2g/リットルを含む培地に、パン酵母を植菌して30℃、pH5.0にて通気攪拌培養を行った。グルコース不足時の培養器内CO₂発生量の低下の現象を利用したCO₂スタット法によるポンプの自動供給により、グルコース300g/リットルを含む基質液を供給した。

【0021】通気及びろ過経路の切換え時間を6時間毎に設定したところ、培養3日目までに菌体濃度を60g/リットルまで高めることができた。このとき、ろ過流量は当初流量の80%に維持された。ろ液中には残存グルコースは全く検出されず、酵母の菌体分離率も98%と良好であった。

【0022】実施例2

実施例1の培養装置において、通気及びろ過経路の切換え時間を1時間毎に設定し、ろ過培養を行ったところ、ろ過流量は当初流量の約95%に維持された。通気による顕著な目詰り防止効果が認められた。

【0023】比較例1

実施例1の培養装置において、通気及びろ過経路の切換えを行わずにろ過培養を行ったところ、培養3日目においてろ過に用いたセラミック膜管のろ過流量は当初流量の約25%に低下した。

【0024】比較例2

実施例1の培養装置において、通気経路に多孔質セラミック管を通さずに、直接通気したところ、酸素消費効率が低下し、消費したグルコースに対する菌体収率は、実施例1の場合の95%にとどまった。

【0025】参考例

実施例2において、液面センサーを用いずに基質供給ポンプと連動してろ液の抜き取りを行ったこと以外は、実施例2と同様に実施したところ、培養3日目に培養液量が当初液量の80%に低下し、菌体増殖速度も同様に低下した。

【図面の簡単な説明】

10

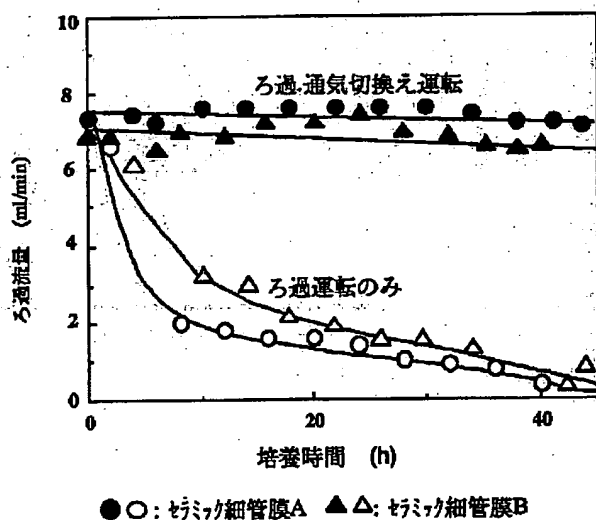
【図1】 本発明の培養装置の1例の概略図。

【図2】 本発明方法による多孔質分離膜の目詰り防止効果の1例を示すグラフ。

【符号の説明】

- 1 培養器
- 2 温度制御用恒温水ジャケット
- 3 攪拌翼
- 4 多孔質膜細管
- 5, 7 切換弁
- ろ液取出管
- 8 送気管
- 9 除菌フィルター
- 10 栄養源ガス供給管
- 11 空気供給管
- 12 液面センサー
- 13, 14 調節弁

【図2】



【図1】

